

广东省健康人群手足口病病原隐性感染状况调查

邓爱萍 张永慧 孙立梅 曾汉日 黎薇 柯昌文 何剑峰 马聪 林锦炎

【摘要】 目的 了解广东省健康人群手足口病病原隐性感染情况。方法 在广东省7个市随机抽取7个年龄组健康儿童及成年人,采集粪便标本进行手足口病病原检测。结果 7个市共采集1285份样本,肠道病毒71型(EV71)阳性率为0.39%(5/1285),柯萨奇病毒A组16(CA16)阳性率为0.23%(3/1285),其他肠道病毒阳性率为7.00%(90/1285)。4~6岁年龄组EV71阳性率最高,为1.79%(4/223),其次为0~3岁年龄组,为0.67%(1/223),其余年龄组均未检出EV71;只有4~6岁年龄组检出CA16,阳性率为1.35%(3/223)。所有EV71阳性标本均在本地户籍人群中检出,阳性率为0.47%(5/1063);CA16在本地户籍人群(0.19%)和外地户籍(0.85%)中均有检出,差异无统计学意义($P>0.05$)。农村和城市EV71的阳性率分别为0.36%和0.54%,差异无统计学意义($P>0.05$);所有CA16阳性标本均在城市儿童中检出。结论 广东省健康人群中仅6岁以下年龄组检出EV71和CA16阳性,健康成年人中未检出EV71和CA16阳性,应重点对儿童尤其是学龄前儿童采取有效防控措施。

【关键词】 肠道病毒71型;柯萨奇病毒A16型;手足口病;隐性感染

Survey on the recessive infection of pathogen to hand-foot-mouth disease among healthy adults and children in Guangdong province DENG Ai-ping, ZHANG Yong-hui, SUN Li-mei, ZENG Han-ri, LI Wei, KE Chang-wen, HE Jian-feng, MA Cong, LIN Jin-yan. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510300, China

Corresponding author: LIN Jin-yan, Email: linjy1957@sohu.com

This work was supported by a grant from the Guangdong Provincial Mandatory Subject of Medical Research (No. C2010016).

【Abstract】 Objective To understand the pathogen-carrying status of hand-foot-mouth disease (HFMD) among healthy people in Guangdong province. **Methods** Stool specimens were collected randomly on 7 age groups from 7 cities in Guangdong province. Real-time RT-PCR was used to detect enterovirus (EV), enterovirus 71 (EV71) and coxsackie virus A16 (CA16). **Results** Altogether, 1285 stool specimens were collected. The positive rates of EV71, CA16 and other enterovirus were 0.39% (5/1285), 0.23% (3/1285) and 7.00% (90/1285), respectively. The highest EV71 positive rate (1.79%) was among the 4-6-year-old group, followed by the age group 0-3 with positive rate as 0.67%. EV71 was not found among the rest age groups. The highest CA16 positive rate (1.35%) was among the 4-6 year-olds group, but the CA16 was not found among the rest age groups. EV71 was only found among native population, with the positive-rate as 0.47%. CA16-positive rate was 0.19% among the native population and 0.85% among floating population, with no significant difference found ($P>0.05$). The EV71 positive rate was 0.36% among rural residents and 0.54% among urban residents, but with no significant difference ($P>0.05$). All CA16 was found among the urban residents. **Conclusion** Recessive infection of EV71 and CA16 were only found among 0-6 year-old group but not found among other groups, which suggested that the approaches on prevention and control should be targeted to all children especially on pre-school children.

【Key words】 Enterovirus 71; Coxsackie virus A16; Hand-foot-mouth disease; Recessive infection

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.02.014

基金项目:广东省医学科研指令性课题(C2010016)

作者单位:510300 广州,广东省疾病预防控制中心传染病防治研究所

通信作者:林锦炎, Email: linjy1957@sohu.com

柯萨奇病毒 A 组 16 (CA16) 和肠道病毒 71 型 (EV71) 是手足口病的主要病原, 二者常相伴感染造成手足口病的暴发^[1]。本研究于 2009 年 7—8 月在广东省开展健康人群手足口病病原隐性感染 (即不引起临床症状的病毒感染) 状况调查。

对象与方法

1. 对象: 采用多阶段分层抽样方法, 将广东省按照地理位置、经济水平、人口结构的不同, 选择珠海、惠州、潮州、东莞、韶关、梅州、茂名 7 市开展人群手足口病病原隐性感染状况调查。其中珠海、惠州、韶关选择城市地区, 潮州、茂名和梅州选取农村地区, 东莞选择流动人口聚集地开展调查。每市采取单纯随机方法各抽取 1 个县 (市), 再在每个县 (市) 中随机抽取城、乡各 1 个街道 (乡镇), 每个街道 (乡镇) 按照整群随机抽样的原则, 分别从 0~3、4~6、7~12、13~15 岁年龄组中各抽取 30 名健康儿童, 在 16~24、25~64、≥65 岁人群各抽取 20 名健康成年人。本研究得到广东省疾病预防控制中心伦理委员会审批。

2. 标本采集及实验室检测:

(1) 标本类型: 采集研究对象 5~8 g 粪便, 标本 4 °C 暂存无菌采便管内, 并于 24 h 内送达实验室, 如不能及时检测则放置 -20 °C 以下低温冻存。

(2) 核酸提取: 首先处理粪便标本: 每管中加入 10 ml PBS、1 g 玻璃珠、1 ml 氯仿; 在生物安全柜中将每份粪便标本取大约 2 g 放入标记好的离心管中, 确保拧紧离心管, 用机械振荡器剧烈振荡 20 min, 离心取上清。然后用德国 Qiagen 公司的 QIAamp Viral RNA Mini 试剂盒提取上清液中的病毒核酸。

(3) 荧光定量 RT-PCR: 首先对每份标本进行肠道病毒通用型荧光定量 RT-PCR 检测, 对检测为阳性的标本再进行 EV71 和 CA16 亚型的鉴定。所用试剂为中山大学达安基因股份有限公司生产的肠道病毒通用型检测试剂盒、EV71 检测试剂盒、CA16 检测试剂盒, 反应条件参见试剂盒说明书。

3. 统计学分析: 标本和检测信息采用 EpiData 3.0 软件进行双录入, 运用 SPSS 13.0 软件进行 χ^2 检验和 Fisher 精确概率检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况: 2009 年 7—8 月, 在珠海、潮州、惠州、茂名、韶关、东莞和梅州 7 个市开展健康人群肠

道病毒隐性感染调查, 对 0~3、4~6、7~12、13~15、16~24、25~64 和 ≥65 岁 7 个年龄组共 1285 人采集粪便标本, 经过检测, EV 通用引物阳性标本有 98 份, 总阳性率为 7.63%, EV71 阳性率为 0.39% (5/1284)、CA16 阳性率为 0.23% (3/1284)、其他肠道病毒阳性率为 7.01% (90/1284)。

2. 人群分布:

(1) 年龄: EV71 隐性感染率最高的是 4~6 岁组, 为 1.79% (4/223), 其次是 0~3 岁组, 为 0.67% (1/150), 其余年龄组均未检出 EV71 阳性。0~3 岁和 4~6 岁 EV71 阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。4~6 岁组检出 3 份 CA16 阳性标本, 隐性感染率为 1.35% (3/223), 其余年龄组均未检出 CA16。所有年龄组均检出其他肠道病毒阳性标本, 其中隐性感染率最高的是 0~3 岁组 (20.00%), 其次是 4~6 岁组 (16.59%), 其他肠道病毒隐性感染率有随年龄增高而降低的趋势 ($\chi^2 = 100.72, P < 0.05$), 见表 1。

表 1 广东省健康人群不同年龄组手足口病病原隐性感染情况

年龄 (岁)	标本数	EV71	CA16	其他肠道病毒
0~3	150	1(0.67)	0(0.00)	30(20.00)
4~6	223	4(1.79)	3(1.35)	37(16.59)
7~12	234	0(0.00)	0(0.00)	10(4.27)
13~15	207	0(0.00)	0(0.00)	5(2.42)
16~24	162	0(0.00)	0(0.00)	5(3.09)
25~64	161	0(0.00)	0(0.00)	2(1.24)
≥65	147	0(0.00)	0(0.00)	1(0.68)
合计	1284	5(0.39)	3(0.23)	90(7.01)

注: 括号外数据为阳性例数, 括号内数据为百分比 (%)

(2) 性别: 男性 EV71 阳性率为 0.47%, 女性为 0.31%, 男女差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。男性和女性 CA16 阳性率分别为 0.15% 和 0.31%, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。男性和女性其他肠道病毒阳性率分别为 8.85% 和 5.15%, 差异有统计学意义, 男性明显高于女性 ($\chi^2 = 6.76, P < 0.05$)。

(3) 户籍: 所有 EV71 阳性标本均在本地户籍人群中检出, 阳性率为 0.47% (5/1063), 本地和外地户籍差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本地和外地户籍人群中均检出 CA16, 阳性率分别为 0.19% (2/1063) 和 0.51% (1/198), 两者差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。其他肠道病毒阳性率外地户籍 (12.12%) 高于本地户籍人群 (6.21%), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.80, P < 0.05$)。

3. 地区分布: 仅在潮州和惠州的标本中检出 EV71, 而 CA16 仅在东莞和韶关的标本中检出。其他肠道病毒阳性率最高的是茂名市, 其次为东莞市,

不同城市的其他肠道病毒的阳性率差异有统计学意义($\chi^2=21.97, P<0.05$), 见表 2。农村和城市的 EV71 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。城市和农村 CA16 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。而其他肠道病毒的阳性率则农村高于城市, 差异有统计学意义($\chi^2=6.88, P<0.05$), 见表 3。

表 2 广东省不同地区健康人群手足口病病原隐性感染情况

城市	标本数	EV71	CA16	其他肠道病毒
潮州	180	2(1.11)	0(0.00)	8(4.44)
东莞	180	0(0.00)	1(0.56)	19(10.56)
惠州	195	3(1.54)	0(0.00)	12(6.15)
茂名	188	0(0.00)	0(0.00)	24(12.77)
梅州	182	0(0.00)	0(0.00)	14(7.69)
韶关	180	0(0.00)	2(1.11)	8(4.44)
珠海	180	0(0.00)	0(0.00)	5(2.78)
合计	1284	5(0.39)	3(0.23)	90(7.01)

注: 同表 1

表 3 广东省城市和农村地区健康人群手足口病病原隐性感染情况

地区	标本数	EV71	CA16	其他肠道病毒
农村	550	2(0.36)	0(0.00)	46(8.36)
城市	556	3(0.54)	2(0.36)	25(4.50)
合计	1106	5(0.45)	2(0.18)	71(6.42)

注: 同表 1

讨 论

2008 年起, 安徽省阜阳市暴发的 EV71 型手足口病迅速波及到全国, 广东省也成为手足口病流行的重灾区。EV71 型感染预防控制策略的重心应主要着眼于传染源的控制和切断传播途径。患者、隐性感染者为该病流行的主要传染源, 而隐性感染者作为传染源的意义可能更大。因此了解健康人群手足口病病原隐性感染状况, 对于手足口病防控措施的制订、疫情趋势评估及疫苗接种等有重要意义。

本研究结果显示, 健康人群 EV71 和 CA16 隐性感染率总体水平较低。EV71 和 CA16 仅在 6 岁以下年龄组检出, CA16 仅在 4~6 岁年龄组检出, 检出率较低。EV71 隐性感染仅发生在 6 岁以下儿童, 这一结果与马来西亚、新加坡、中国台湾和深圳等地的血清流行病学调查结果基本一致, 血清学研究显示新生儿母传抗体可能仅持续 1 个月左右; 2 岁以下儿童的血清抗 EV71 抗体水平极低, 到 5~6 岁时血清抗体水平上升并达到一个稳定的状态^[2-4]。因此, EV71 攻击的目标人群多为 5~6 岁以下的儿童。

既往有学者提出成年人亦可感染, 并在同一家庭成员内部传播, 但临床症状一般不明显或呈隐性感染, 这种亚临床感染或隐性感染也是 EV71 快速传

播的又一个重要途径^[5-7]。本研究在成年人标本中未检出 EV71 和 CA16 病毒, 提示健康成年人隐性感染 EV71 和 CA16 的可能性很低, 可能因为既往感染体内已产生抗体因此不容易感染 EV71 和 CA16 病毒, 因此作为隐性感染者传播意义不大。推测儿童感染 EV71 和 CA16 病毒多数来自于幼儿园或者同龄的玩伴。

本研究发现, 本地与外地户籍儿童、城市与农村儿童对于 EV71 和 CA16 有着相同的隐性感染率, 这个结果与以往普遍认为的流动人口和农村儿童因为卫生习惯差所以更易感不同, 说明 EV71 和 CA16 感染是由多种因素综合影响的结果, 本地户籍及城市儿童感染 EV71 和 CA16 的风险同样较高。

本研究还发现, 非 EV71 和 CA16 的其他肠道病毒隐性感染的情况较普遍, 每个年龄阶段的健康人群都会有感染发生, 隐性感染主要发生在 6 岁以下儿童, 并且随着年龄的增加隐性感染率不断下降。其中 6 岁以下的阳性率为 17.96%。而 15 岁以上的阳性率仅为 1.70%。说明儿童尤其是小年龄儿童对肠道病毒有更高的易感性, 这与已有研究一致^[8]。

参 考 文 献

- [1] Wang YT. Etiology and epidemiology of hand-foot-mouth disease. *J Appl Clin Pediatr*, 2009, 24(22): 1705-1706. (in Chinese)
王亚亭. 手足口病的病原及流行病学. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24(22): 1705-1706.
- [2] Herrero LJ, Lee CS, Hurrelbrink RJ, et al. Molecular epidemiology of enterovirus 71 in peninsular Malaysia, 1997-2000. *Arch Virol*, 2003, 148(7): 1369-1385.
- [3] Zhou SL, Li LL, He YQ. Semiological epidemiology investigation of enterovirus type 71 infection in Shenzhen. *J Trop Med*, 2007, 7(1): 66-67. (in Chinese)
周世力, 李琳琳, 何雅青. 深圳市肠道病毒 71 型血清流行病学初步调查. *热带医学杂志*, 2007, 7(1): 66-67.
- [4] Ooi EE, Phoon MC, Ishak B, et al. Seroepidemiology of human enterovirus 71, Singapore. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8(9): 995-997.
- [5] Chang LY, Tsao KC, Hsia SH, et al. Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in household contacts in Taiwan. *JAMA*, 2004, 291(2): 222-227.
- [6] Kang L. Clinical analysis of adults hand-foot-mouth disease. *Chin J Dermatovenereol Integ Tradit Western Med*, 2006, 5(4): 236-237. (in Chinese)
康莉. 成年人手足口病临床分析. *中国中西医结合皮肤性病学期刊*, 2006, 5(4): 236-237.
- [7] Lu YH, Jiang QW. EV71 and hand, foot and mouth disease. *Chin J Dis Control Prev*, 2008, 12(3): 183-188. (in Chinese)
陆一涵, 姜庆五. 人肠道病毒 71 型与手足口病. *疾病控制杂志*, 2008, 12(3): 183-188.
- [8] Xu AQ, Wang TZ, Wang HY, et al. An epidemiological study on enteroviruses carrying status among healthy children in Shandong province. *Lit Inf Prev Med*, 2002, 8(1): 3-5. (in Chinese)
徐爱强, 王同展, 王海岩, 等. 山东省健康儿童肠道病毒带毒状况调查. *预防医学文献信息*, 2002, 8(1): 3-5.

(收稿日期: 2011-09-06)

(本文编辑: 万玉立)